



Original Article/Artigo Original

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DE IDENTIFICAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA E DOSEAMENTO DA FUROSEMIDA EM CÁPSULAS

Lindisley Ferreira Gomides^{1*}, Matheus Sena², Gisele Rodrigues da Silva³

1 - Doutoranda em Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

2 - Mestre em Ciências Farmacêuticas, Perito Criminal da Polícia Civil do Estado de Minas Gerais, Brasil.

3 - Doutora em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de São João Del-Rey, Brasil.

*Autor Correspondente: Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais. CEP 31270-901. ✉ lfergomides@gmail.com

Received: 01 December 2014; Revised 12 December 2014; Accepted 15 December 2014; Published online: 24 December 2014

RESUMO: A furosemida é um derivado do ácido sulfamoiilantranílico, considerada um diurético de alta eficácia e salurético potente por atuar principalmente no ramo ascendente da alça de Henle. É utilizada no tratamento de edemas associados a distúrbios cardíacos, hepáticos e ou renais, bem como no tratamento de hipertensão arterial leve a moderada¹. Devido ao controle de qualidade das cápsulas de furosemida ser limitado, até o momento, pela inexistência de monografias farmacopéias oficiais deste fármaco nessa forma farmacêutica, o objetivo deste trabalho foi contribuir para o controle de qualidade da furosemida através desenvolvimento e validação do método de doseamento e identificação por espectrofotometria UV, por ser um método simples, econômico e de rápida execução, podendo ser aplicável em qualquer laboratório. Os parâmetros utilizados seguiram a RE 899 da ANVISA e observou-se que, embora inexato, o método foi eficaz na identificação, apresentando-se seletivo, linear e preciso.

Palavras Chave: Furosemida; Validação; Espectrofotometria.

ABSTRACT: (*Validation of Spectrophotometric Identification and Quantification Method for Furosemide in Capsules*) Furosemide is a sulfamoiilantranilic acid derivative considered a diuretic of high efficiency and a strong saluretic. Its action place is the loop of Henle and it's used in the treatment of edema due to heart, liver or kidney disorders, as well as in the treatment of hypertension leads to moderate. Due to the quality control of the capsules of furosemide be limited so far by the lack of official pharmacopoeias monographs in this dosage form, this study aimed to contribute to the quality control of furosemide through the development and validation of determination and identification by UV spectrophotometry method, as a simple, cheap, and quick way that may be implemented in any laboratory. The parameters used in the ANVISA RE 899 and it was observed that, although inaccurate, the method was effective in identifying, it was selective, linear and precise.

Key words: Furosemide; Validation; Spectrophotometry.

INTRODUÇÃO

A furosemida, substância correspondente ao ácido 4-cloro-2-(furan-2-ilmetilamino)-5-sulfamoiilbenzóico, é um derivado do ácido sulfamoiilantranílico (Figura 1). Atua na reabsorção de sódio e cloreto, não somente nos túbulos proximais e distais, mas também no ramo ascendente da alça de Henle, sendo por este último local de ação reconhecida a sua eficácia como diurético². É utilizada no tratamento de edemas associados a distúrbios cardíacos, hepáticos e ou renais, bem como no tratamento de hipertensão arterial leve a moderada¹. Embora as cápsulas de furosemida sejam comercializadas, o referido medicamento não possui um método de quantificação nos principais compêndios oficiais, não possuindo, portanto, parâmetros oficiais nacionais para avaliação da qualidade do fármaco na respectiva forma farmacêutica³.

Levando em consideração o princípio ativo denominado furosemida, constatou-se que há monografias deste fármaco, matéria-prima e comprimidos, no 3º fascículo da Farmacopéia Brasileira e na Farmacopéia Britânica. Já a Farmacopéia Americana apresenta todas estas monografias e também a de furosemida solução injetável. Observa-se, portanto, que não constam nos principais compêndios oficiais à monografia de furosemida cápsulas^{4,5}.

É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida. Se um método existente for modificado para atender aos requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido, o laboratório deve se assegurar de que as características de desempenho do

método atendem aos requisitos para as operações analíticas pretendidas⁶.

A metodologia analítica para a quantificação da furosemida existente em compêndios oficiais fundamenta-se na maioria das vezes em titulometria, e tendo em vista as interferências do método titulométrico, bem como sua menor sensibilidade, se comparado com o método espectrofotométrico, justifica-se o desenvolvimento e a validação de um método que seja satisfatório as necessidades laboratoriais para a quantificação deste fármaco em cápsulas e principalmente, que atenda às especificações dos órgãos regulamentadores⁷.

Para assegurar que os métodos serão adequados para a aplicação pretendida, faz-se necessário a validação. As guias oficiais estabelecem as definições e especificações dos parâmetros analíticos que devem ser avaliados durante a validação de acordo com o tipo de amostra a ser analisada. A validação de métodos assegura a credibilidade destes durante o uso rotineiro, sendo algumas vezes mencionado como o processo que fornece uma evidência documentada de que o método realiza aquilo para o qual é indicado para fazer^{8, 9, 10}.

Diante desses dados, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e validar a metodologia de identificação e doseamento da furosemida em cápsulas, utilizando a técnica de espectrofotometria de absorção no ultravioleta (UV), que por ser parcimonioso, simples e de rápida execução, pode-se adequar a qualquer laboratório.

Materiais e Métodos

Para o desenvolvimento da metodologia e sua validação, foi utilizado a furosemida matéria-prima (Lote: 5064HRI), proveniente da Genix Indústria Farmacêutica, Anápolis - GO. Devido existir uma padronização, por parte das farmácias magistrais, dos compostos empregados na produção das cápsulas¹¹, utilizou-se o Dilucap[®] como excipiente (Lote:00800078944563, Dinâmica[®]), que reúne substâncias como amido (69,5%), lactose (25,0%), talco (5%) e estearato de magnésio (0,5%), compondo assim, a matriz dos ensaios analíticos.

Os reagentes utilizados no presente estudo foram: Hidróxido de Sódio PA (Lote: 32100, Dinâmica[®]), onde a Furosemida se comporta como um fármaco estável⁵, segundo descrito na Farmacopéia Brasileira, e água destilada. O equipamento utilizado para a análise das amostras foi o espectrofotômetro monofeixe da marca Biospectro SP 220.

Os parâmetros que foram considerados para a validação do método analítico, seguiram a RE 899 da

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o DOQ-CGCRE-008 do INMETRO que preconizam, segundo a finalidade desta metodologia, os seguintes ensaios: identificação, seletividade, linearidade, precisão e exatidão^{6, 12}.

Preparo de soluções de trabalho e da amostra

Preparou-se, primeiramente, soluções estoques de padrão e de excipientes utilizadas como base para o preparo das demais amostras requeridas para a execução dos ensaios analíticos. Essas foram devidamente filtradas em filtro quantitativo e submetidas a sucessivas diluições até a concentração desejada para a realização dos testes, uma vez que cada parâmetro de validação adotou concentrações variadas para a execução do método. A solução de furosemida estoque 100 mg/L, foi empregada neste estudo como solução padrão. Para tal, foi pesada 100 mg de furosemida matéria-prima, diluída em NaOH 0,1 mol/L. Preparou-se também uma solução com excipientes 200 mg/L, contidos no Dilucap, em NaOH 0,1 mol/L, concentração cinco vezes superior ao usado na manipulação das cápsulas.

Determinação do espectro de absorção e da concentração de trabalho

Segundo a Farmacopéia Brasileira, o espectro de absorção no ultravioleta de uma solução de furosemida, presente nas cápsulas, a 0,0005% (p/V), em hidróxido de sódio 0,1 mol/L, exibe máximos em 228, 271 e 333 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de furosemida padrão¹³. Para a confirmação do comprimento de onda de absorbância máxima descrito na literatura foi realizada uma varredura espectrofotométrica da solução de furosemida, no intervalo de 220 a 370 nm. Utilizou-se uma série de diluições da furosemida, as quais foram submetidas à leitura no equipamento para a determinação da concentração de trabalho que seria utilizada na execução dos ensaios.

Identificação espectrofotométrica

Para a realização do ensaio de identificação, preparou-se a solução padrão, que continha apenas a furosemida (5 mg/L) e a amostra, a qual foi adicionada também o Dilucap em concentração cinco vezes maior que a contida na formulação das cápsulas. Ambas as soluções foram submetidas à leitura espectrofotométrica, na faixa de 220 a 320 nm, utilizando o NaOH 0,1 mol/L como branco. Obteve-se então, o gráfico da varredura espectral e comparou-se a semelhança entre os picos de absorção das

duas soluções, para verificar possíveis interferências dos demais componentes na solução amostral.

Seletividade

A seletividade foi determinada através da análise de dois grupos de cinco soluções subseqüentes de furosemida, nas concentrações de 6, 8, 10, 12 e 14 mg/L, sendo que em um deles foi adicionado o Dilucap. As soluções foram submetidas à avaliação espectrofotométrica no comprimento de onda 271nm e através das absorbâncias obtidas, calculou-se a equação de regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados e o coeficiente angular.

Linearidade e intervalo

Refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de correlação do gráfico analítico, que não deve ser estatisticamente diferente de 1 (avaliado pelo teste t de Student), observando-se que a inclinação da reta seja diferente de zero. Assim, é necessário obter coeficiente de correlação estatisticamente igual a um e coeficiente angular diferente de zero. A linearidade e o intervalo foram determinados com auxílio da curva de calibração, obtida através das leituras espectrofotométricas em comprimento de onda adequado, de diferentes concentrações da amostra com excipiente (2 a 14 mg/L utilizando NaOH 0.1 mol/L como solvente). Calculou-se, posteriormente, a equação de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, o coeficiente angular, o coeficiente de correlação linear (r), o intercepto da curva com o eixo y e avaliou-se a distribuição normal dos resíduos, segundo às exigências da legislação¹.

Precisão

A precisão do método analítico foi avaliada nos níveis: precisão intra-corrida (repetibilidade) e precisão inter-corrida (intermediária).

- *Precisão intra-corrida (repetibilidade)*

A repetibilidade do método mede o grau de variação de uma série de replicatas em uma mesma sequência, nas condições originais do método. Foi avaliada através de seis determinações espectrofotométricas a 100% da concentração de trabalho, realizadas pelo mesmo analista, mesmo laboratório e um intervalo de tempo suficiente para a realização das análises.

- *Precisão inter-corrida (intermediária)*

A precisão intermediária, assim como a repetibilidade, também executou as seis determinações espectrofotométricas a 100% da concentração de trabalho; porém expressando o efeito das variações dentro do mesmo laboratório, com análise em diferentes dias, não consecutivos, por analistas diferentes. Ambos os parâmetros foram obtidos através do coeficiente de variação (CV) entre as amostras, subsidiados pelos valores alcançados das doze leituras que possibilitaram o cálculo, não sendo aceitável valor superior a 5%¹².

Exatidão

A exatidão do método reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra e foi determinada através do ensaio de recuperação, onde três grupos de soluções com diferentes concentrações foram avaliados. Para isso, preparou-se os três grupos de solução, em triplicata para cada concentração, a partir de duas soluções anteriormente manipuladas. Primeiramente preparou-se a solução padrão 50 mg/L de furosemida. A partir desta, preparou-se a solução amostra 50 mg/L de furosemida adicionada à 200 mg/L de excipiente.

Posteriormente, preparou-se três soluções, de concentração 80%, 100% e 120%. Para tal, pipetou-se as respectivas concentrações da solução padrão e adicionou-se 10 mL da solução de furosemida e excipientes. Em seguida, preparou-se três soluções sem adição de padrão e com a mesma concentração de trabalho da furosemida (50%), pipetando-se apenas 10 mL de solução amostra. O último grupo, por sua vez, apresentou concentrações de 30%, 50% e 70% de solução padrão e não houve adição de solução amostra. Para tal pipetou-se 6, 10 e 14 mL da solução padrão. A exatidão do método foi avaliada calculando-se a porcentagem de recuperação de furosemida conforme sugere a RE 899 da ANVISA¹².

Foram realizadas as leituras espectrofotométricas dos três grupos de amostras e com as absorbâncias obtidas calculou-se a porcentagem de recuperação (%R).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi realizada uma varredura espectrofotométrica no intervalo de 220 a 370 nm, para confirmação do comprimento de onda de melhor absorção para o desenvolvimento do método. Adotou-se 271 nm como sendo o comprimento de onda de trabalho, visto que esse

evidenciou a melhor absorbância, comprovando experimentalmente o descrito na literatura.

Após a varredura espectrofotométrica foi plotado um gráfico obtendo-se o espectro de absorção da furosemida. Na determinação da concentração de trabalho, após a leitura espectrofotométrica das diferentes soluções testadas, foi escolhida a de 5 mg/mL, uma vez que a absorbância gerada por esta não ultrapassou o valor de 1,0, sendo por esse motivo considerada uma concentração adequada para a realização dos testes.

No ensaio de identificação, após ter-se realizado as leituras espectrofotométricas das soluções teste, nos comprimentos de onda de 220 a 370 nm, pôde-se perceber que o método apresentou-se adequado, visto que, comparativamente, as curvas espectrais das soluções de

furosemida na presença e na ausência de Dilucap apresentaram perfis idênticos (Figura 1).

Através da análise qualitativa dos espectros de absorção de ambas as soluções, observou-se um pico de absorção ideal em torno de 271 nm, sendo este resultado idêntico ao especificado na farmacopéia brasileira¹⁴, o qual não sofre nenhuma interferência de outra substância e por esse motivo, apresenta-se com melhor perfil no gráfico de absorbância versus comprimento de onda plotado. Desta forma, pode-se comprovar a especificidade do método uma vez que comparando-se à absorbância do padrão do mesmo produto livre de matriz e com o padrão dissolvido com tal componente, demonstra-se pelo resultado obtido que a absorbância apresentada pela solução de furosemida não é afetada pela presença dos componentes usados na formulação do produto acabado.

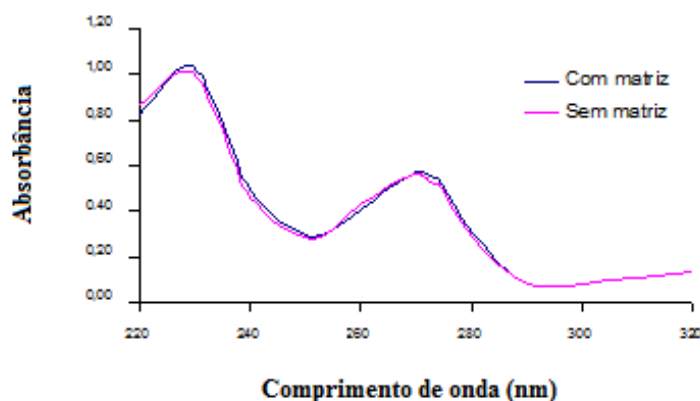


Figura 1. Espectro de absorção da furosemida 5mg/mL e da solução do furosemida 5mg/mL com Dilucap 200 mg/L.

A metodologia validada em relação à seletividade refere-se à habilidade do método em avaliar, de forma inequívoca, vários analitos na presença de componentes que podem interferir na sua determinação, tais como solventes e impurezas^{15, 16}. Na execução deste ensaio, foi avaliada somente a influência exercida pelo Dilucap, sendo este, o excipiente utilizado na formulação de cápsulas. Calculou-se a equação de regressão linear, pelo método dos mínimos

quadrados, obtendo-se um resultado de $R^2 = 0,9994$ referente à equação de $y = 0,9888x + 0,001$, valor que comprova a seletividade do método. De acordo com o valor obtido para o coeficiente angular, percebe-se claramente que não há diferença significativa entre as absorbâncias da amostra que continha apenas a furosemida e a que possuía além deste, o Dilucap (Figura 2).

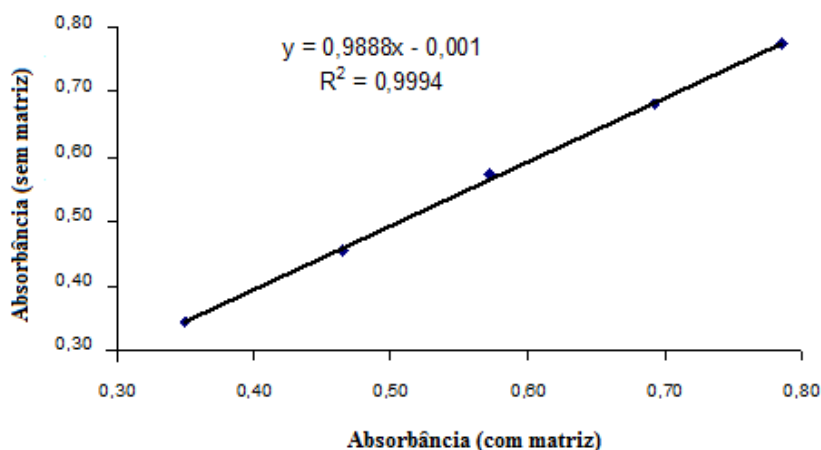


Figura 2. Absorbância da furosemida na concentração de 6 a 14 mg/L, no comprimento de onda de 271 nm, na presença e ausência de excipiente.

Com relação ao parâmetro linearidade, pelo método dos mínimos quadrados obteve-se a equação média da curva analítica $y = 0,0548x + 0,0169$. A análise da regressão demonstrou um coeficiente de variação $R^2 = 0,9995$ o que demonstra a existência de uma efetiva correlação linear entre os valores de absorbância e concentração, na qual 99,9% da variação total da absorbância, em torno da média,

pode ser explicada pela variação da concentração. Os pontos da curva foram plotados num gráfico concentração (mg/L) versus absorbância (271nm) e obtida a curva de calibração (Figura 3). Observa-se desta forma, que o método apresentou linearidade no intervalo da concentração utilizada (2 a 14 mg/L), possibilitando a quantificação da furosemida dentro dos limites desejados.

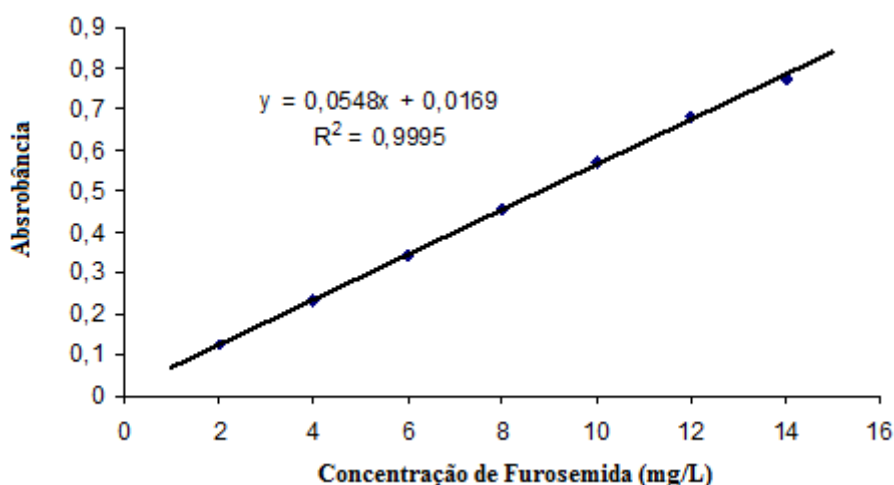


Figura 3. Linearidade e faixa do método de quantificação do furosemida por UV. (Absorbância 271 nm).

Através da análise da variância ANOVA, pode-se testar a linearidade do método e a significância estatística da curva ajustada, revelando que o modelo é estatisticamente significativo ($p=0,000$), ou seja, a equação de regressão obtida representa adequadamente a relação existente entre a absorbância e a concentração do analito estudado. O desvio padrão determinado para os diferentes valores do coeficiente angular (a) foi de 0,0005 e para o intercepto (b) foi de 0,0047. O desvio padrão dos resíduos (S) foi igual a 0,0056 e o intercepto, a um nível de 99% de

certeza não pode ser considerado estatisticamente diferente de zero ($p=0,016$).

O estudo de precisão do método entre os ensaios avaliou a capacidade de reprodução de resultados idênticos, calculando-se o coeficiente de variação (CV) para as absorbâncias obtidas no ensaio de repetibilidade e precisão intermediária (Tabela 1). Para o ensaio de repetibilidade, o CV obtido para as seis réplicas a 100 % (100 mg/L) do teste foi de 0,26 %, estando este resultado dentro da especificação da RE 899 da ANVISA que estabelece como limite aceitável uma variação de ± 5 %. Para a precisão

intermediária foi encontrado um CV de 0,66 % para as seis réplicas a 100 % da concentração de trabalho, inferindo que

dias e analistas diferentes não interferem de forma significativa nos resultados das análises¹.

Parâmetro	Balão	Abs. 271 nm
1º Dia	1	0,539
	2	0,539
	3	0,54
	4	0,542
	5	0,539
	6	0,538
Precisão Intra-dias	Média _{Abs} = 0,5395	
	CV (%) = 0,26	
2º Dia	1	0,544
	2	0,542
	3	0,547
	4	0,538

Tabela 1. Valores experimentais obtidos na determinação da precisão intra-córidas e inter-córidas para a furosemida a 100% (5 mg/L), no comprimento de onda de 271 nm.

A determinação da exatidão foi realizada com três concentrações diferentes (baixa, média e alta) 3 mg/L (80 %); 5 mg/L (100 %) e 7 mg/L (120 %), sendo avaliada pela técnica de adição de padrão, obtendo-se após a finalização do ensaio as respectivas porcentagens de recuperação para as amostras analisadas (Tabela 2). Diante dos resultados

encontrados para a porcentagem de recuperação, observou-se que os níveis baixo, intermediário e alto da concentração, sofreram variações que não corresponderam aos valores legais estabelecidos na RE 899, que estabelece uma variação aceitável de 98 a 102 % de recuperação.

Com adição de Padrão (C1)				
Concentrações	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância 3	Média
80%	0,514	0,510	0,515	0,513
100%	0,630	0,608	0,626	0,621
120%	0,729	0,734	0,717	0,727
Sem adição de Padrão (C2)				
Concentração	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância 3	Média
50%	0,282	0,280	0,320	0,294
Padrão (C3)				
Concentração	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância 3	Média
30%	0,249	0,242	0,238	0,243
50%	0,345	0,347	0,347	0,346
70%	0,460	0,463	0,464	0,459
Recuperação				
80%				90,1%
100%				94,5%
120%				94,3%

Tabela 2. Valores experimentais obtidos no teste de recuperação da furosemida em cápsulas

Para esses resultados insatisfatórios obtidos, infere-se que erros sistemáticos podem estar relacionados à não

utilização de uma substância química de referência (SQR) da furosemida, para a validação do método, medidas

volumétricas imprecisas, substâncias interferentes na amostra, bem como a uma leitura tendenciosa do espectrofotômetro para os dois níveis alterados e/ou o uso de um intervalo de quantificação com níveis de concentrações elevadas, entre outros¹⁷⁻¹⁹. Embora não tenha alcançado a faixa de intervalo considerado ideal pelos órgãos regulamentadores, é interessante que a expressão dessa exatidão seja criteriosamente conhecida, visto que poderá servir de base para trabalhos posteriores na busca de melhorar as percentagens de recuperação a fim de se eliminar os prováveis interferentes na exatidão do método, garantindo resultados que sejam seguros e eficazes para a análise do referido medicamento¹⁹⁻²¹.

CONCLUSÃO

Ilustrado que a escolha de uma metodologia é de fundamental importância para o procedimento do controle de qualidade de uma forma farmacêutica, após realizar os procedimentos práticos à sua validação, foi percebido o estimado valor da mesma no aprendizado e exercício dessa etapa tão necessária na rotina farmacêutica industrial. Observou-se que os parâmetros de validação estudados asseguraram a qualidade do método analítico e, conseqüentemente, a obtenção de resultados laboratoriais confiáveis na identificação, seletividade, linearidade e precisão para aplicação na quantificação da furosemida em cápsulas segundo os resultados dos experimentos realizados. É de grande relevância, porém, a realização de estudos complementares a fim de aperfeiçoar a exatidão do método proposto, uma vez que este parâmetro apresentou uma pequena variação em relação às especificações atuantes.

REFERÊNCIAS

1. Silva, G. R. Desenvolvimento De Métodos Analíticos Para O Controle De Qualidade De Estavudina (Matéria-Prima E Cápsulas) E Da Estavudina, Lamivudina E Nevirapina Associadas Em Comprimidos. 2005. 188f. (Dissertação Mestrado Em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade De Farmácia - Universidade Federal De Minas Gerais. Minas Gerais, 2005.
2. Korolkovas, A. Dicionário Terapêutico Guanabara, 2003/2004.Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan 2004.
3. Katzung, B. G. Farmacologia Básica E Clínica. 9. Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 670-671p.
4. Brasil. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução - Rdc N° 79, De 11 De Abril De 2003. Diário Oficial Da República Federativa Do Brasil, Brasília, Df. Disponível Em [*Http://Www.Anvisa.Gov.Br*](http://www.anvisa.gov.br). Acesso Em: 03 Abr. 2014
5. Farmacopéia Brasileira. 3. Ed. São Paulo: Organização Andrei, 1977
6. Doq-Cgcre-008. Orientações Sobre Validação De Métodos De Ensaio Químicos. Inmetro (Instituto Nacional De Metrologia, Normalização E Qualidade Industrial), 2003; 1-35
7. Duarte, Livia Teixeira. Desenvolvimento E Validação De Metodologia Espectrofotométrica Para Doseamento De Furosemida Matéria-Prima. Revista Eletrônica De Farmácia, [S.L.], Dez. 2007. Issn 1808-0804. Disponível Em: [Http://Revistas.Ufg.Br/Index.Php/Ref/Article/View/2752](http://revistas.ufg.br/index.php/ref/article/view/2752). Acesso Em: 15 Jun. 2014. Doi:10.5216/Ref.V4i2.2752.
8. Leite, F. Validação Em Análise Química. 4. Ed. São Paulo: Átomo, 2002.
9. Gil, E. S. Controle Físico-Químico De Qualidade De Medicamentos. 2. Ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007.
10. Relacre. Guia Relacre 13. Validação De Métodos Internos De Ensaio Em Análise Química. Portugal. 2000.
11. Ferreira, Anderson De Oliveira. Guia Prático De Farmácia Magistral - 2ª Edição. Juiz De Fora, 2002.
12. Brasil. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução - Re 899, De 29 De Maio De 2003. Disponível Em [*Http://Www.Anvisa.Gov.Br*](http://www.anvisa.gov.br). Acesso Em: 02 Nov. 2008.

13. Farmacopéia Brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 2002. Fascículo 4.
14. Cass, Q. B.; Degani, A. L. G. Desenvolvimento De Métodos Analíticos Por Hplc. Fundamentos, Estratégias E Validação. São Carlos: Edufscar, 2001. 77p.
15. Vogel, A. I.; Mendham, J. Vogel - Análise Química Quantitativa. 6. Ed. Rio De Janeiro: Livros Técnicos E Científicos, 2002.
16. Stulzer, H. K.; Tagliari, M. P.; Segatto Silva, M. A. Desenvolvimento E Validação De Um Método Analítico Para A Quantificação Por Espectroscopia Uv De Captopril Em Comprimidos De Liberação Prolongada. Revista Colombiana De Ciências Químico-Farmacêuticas, Colômbia, V. 35, N.2, P. 212-223, Dez. 2006.
17. Aziz F, Gupta A, Khan Mf. Development And Validation Of A Rp-Hplc Method For Determination Of Cyclosporine In Capsule. Indian J Pharm Sci. 2010 Mar;72(2):252-5
18. Sagirli, O., Toker, S. E. And Önal, A. (2014), Development Of Sensitive Spectrofluorimetric And Spectrophotometric Methods For The Determination Of Duloxetine In Capsule And Spiked Human Plasma. Luminescence. Doi: 10.1002/Bio.2652
19. Patel Ns, Nandurbarkar Vp, Patel Aj, Patel Sq. Simultaneous Spectrophotometric Determination Of Celecoxib And Diacerein In Bulk And Capsule By Absorption Correction Method And Chemometric Methods. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2014 May 5;125:46-52.
20. Provenza N, et al. Permeation studies through porcine small intestine of furosemide solutions for personalised paediatric administration. International Journal of Pharmaceutics. 2014; 475(1-2): 208-213
21. Gamero C, Chattah AK, Longhi M. Improving furosemide polymorphs properties through supramolecular complexes of β -cyclodextrin. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014; (95): 139-145